Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R.-E. Bader

Bestimmung der Antikörper gegen Escherichia coli, Pasteurella pseudotuberculosis und Salmonella typhi in Seren gesunder Kinder verschiedener Altersstufen mit der Methode der indirekten Hämagglutination

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Brigitte Walter
aus Stuttgart

1968

9406

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547604_0053

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R.-E. Bader

Bestimmung der Antikörper gegen Escherichia coli, Pasteurella pseudotuberculosis und Salmonella typhi in Seren gesunder Kinder verschiedener Altersstufen mit der Methode der indirekten Hämagglutination

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Brigitte Walter
aus Stuttgart

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof.Dr. Fred L e m b e c k

Berichterstatter: Prof.Dr. R.-E. B a d e r

Inhaltsverzeichnis

A - Einleitung 1

B - Material und Methodik 7

I - Material: 7
1. Trägerpartikel 7
2. Bakterienstämme 7
3. Antigene 8
4. Seren 9

II - Methodik: 1o
1. Antigentiterbestimmung 1o
2. Serumtiterbestimmung 11
3. Kontrollen 12
4. Objektträgeragglutination 12

C - Ergebnisse 13

1. Altersabhängigkeit des Normalantikörpertiters 14
2. Korrespondierender Titeranstieg für alle Untersuchungsantigene 18
3. Geschlechtsabhängigkeit des Normalantikörpertiters 19
4. Frühgeburten 2o
5. Escherichia coli - Dyspepsien 22
6. Congenitale Listeriose 23

D - Diskussion 24

1. Vergleich der Untersuchungsergebnisse über die Altersabhängigkeit mit anderen Autoren 24
2. Beziehungen zum Prädilektionsalter der Coli-Dyspepsien 27
3. Geschlechtsabhängigkeit 28
4. Ursachen der Normalantikörperbildung 29

E - Zusammenfassung 36

F - Literaturverzeichnis 37

A - Einleitung

Den großen Funktionssystemen des Organismus, nämlich Nerven-, Kreislauf- und Verdauungssystem, kann man heute mit einer gewissen Berechtigung ein „Immunitätssystem" an die Seite stellen, das rein anatomisch Reticuloendotheliales System, Thymus, Milz, Knochenmark, Lymphknoten, Lymphfollikel und die aus diesen Organen hervorgehenden Blutzellen umfaßt (G ü n t h e r, 1964). „Die Entwicklung der immunologischen Kompetenzen ist ein Teil der morphologischen und funktionellen Differenzierung im Organismus des Feten und Neugeborenen" (B u r n e t, 1962), wobei sich die Immunität eines Individuums aus zahlreichen Einzelimmunitäten gegen die verschiedenen Krankheitserreger und andere Antigene zusammensetzt. Die Gesamtheit der Einzelimmunitäten bildet also das individuelle Immunitätsspektrum, das in Abhängigkeit von inneren und äußeren Einflüssen entsteht und sich ständig ändert.

Schon beim Neugeborenen ist dieses Immunitätssystem als anatomischer Apparat vorhanden, der allerdings noch unreif und ungeübt ist. Unter dem Schutze passiv erworbener, mütterlicher Antikörper läuft beim Neugeborenen die Reifung des eigenen Immunitätssystems an, die vom Thymus gesteuert wird, wie Versuche an thymektomierten Tieren in den letzten Jahren erst gezeigt haben (B u r n e t, 1962; G r a e t z e r, C o t e, W o l f e, 1963; G ü n t h e r, 1964).

Im folgenden sollen die Antikörper, die ohne nachweisbare Antigenstimulation gebildet werden und mit der derzeit wohl in der Immunologie empfindlichsten Methode

der indirekten Hämagglutination im Serum bestimmt werden können, als N o r m a l a n t i k ö r p e r bezeichnet werden. Aufgrund der oben erwähnten Forschungsergebnisse stellt sich nun zwangsläufig die Frage, ob diese Normalantikörper in ihrer Produktion von der Reife des Immunitätssystems abhängig sind. Danach müßte ihre Konzentration im Blut klinisch Gesunder in Beziehung zum Alter des betreffenden Individuums zu setzen sein. Andererseits könnte das Auftreten von Normalantikörpern ebenso auf latente Infektionen, also auf Umwelteinflüsse zurückzuführen sein und ihre Menge dann Dauer und Stärkegrad der verschiedensten Antigeneinwirkungen widerspiegeln.

Die Fähigkeit „normaler" Seren, suspendierte Bakterien zu agglutinieren, wurde schon von vielen der frühen Forscher, wie z.B. von B o r d e t (1899), beobachtet, als sie die Eigenschaften von Immunagglutininen studierten. Seither wird immer wieder die Frage nach ihrer Bedeutung und ihrem Ursprung aufgeworfen. B ü r g i berichtete 1907 über das Auftreten von Agglutininen für eine große Anzahl von Mikroorganismen im Normalserum der verschiedensten Tierarten. Aus dieser Feststellung zog er den Schluß, daß sie das Ergebnis eines unspezifischen physiko-chemischen Prozesses entsprechend der Flokkulation eines kolloidalen Sols sein müßten, wohingegen aber bestimmte spezifische Substanzen durch ihre Bindung an das betreffende Bacterium den Eintritt einer Agglutination erst ermöglichen würden.

Daß die Seren junger, gesunder Tiere nur eine geringe oder gar keine Agglutinationsaktivität zeigen, wurde von verschiedenen Autoren schon früh festgestellt.

So wies L ü d k e schon 1905 auf dieses Phänomen hin. Im Jahre 1925 deuteten H i r s z f e l d und Mitarbeiter das Fehlen von Hammelhämolysinen und Typhusagglutininen bei jungen Tieren und ihr Auftreten mit zunehmendem Alter als Zeichen noch ablaufender serologischer Reifungsprozesse im Rahmen der allgemeinen Wachstumsvorgänge junger Organismen. Nach Ansicht dieser Autoren sind Normalantikörper „biochemische Organe", die im Serum zu einer bestimmten Zeit des Lebens, ganz ähnlich wie physiologische Reflexe, auftreten und die nach Mendelschen Gesetzen vererbt werden. In Analogie zum Begriff der Morphogenese prägte H i r s z f e l d für dieses Phänomen den Ausdruck „Serogenese".

In diesem Zusammenhang muß auch auf die Arbeit von H a l b e r und Mitarbeitern (1927) hingewiesen werden, in der mitgeteilt wird, daß bei Säuglingen im ersten Lebensjahr keine oder nur sehr wenig Normalantikörper im Serum nachweisbar waren. Er folgerte daraus, daß die Bildung von Normalantikörpern erst mit dem Ende des ersten Lebensjahres einsetzt. Ein progressives Anwachsen der natürlichen Hämolysine gegenüber Hammelblut und der Agglutinine gegen Kaninchenerythrocyten mit zunehmendem Alter wurde von F r i e d b e r g e r (1929) im menschlichen Serum festgestellt. Ebenso findet L o v e l l (1934) in Schweineseren um so mehr Normalantikörper gegen verschiedene Salmonellenstämme, je älter die Tiere sind, ohne daß bei diesen Schweinen eine manifeste Infektion mit einem der Teststämme erfaßbar gewesen wäre und obwohl diese Salmonellenstämme nicht zu den üblichen Darmerregern der Schweine zählen.

Der Streit über den Ursprung der Normalantikörper datiert aus der Zeit, als H i r s z f e l d (1925) latente In-

Infektionen als Ursache in Frage stellte und statt dessen das Bestehen einer Serogenese für wahrscheinlich hielt. G i b s o n (193o) versuchte diese beiden Betrachtungsweisen zu vereinen, indem er die von B ü r g i bereits 19o7 entworfene Vorstellung von einem zweiphasigen Agglutinationsvorgang aufgriff. Bei seinen Untersuchungen der Normalantikörper auf ihre Spezifität kam er zu dem Schluß, daß zwei verschiedene Faktoren für die Agglutination im Serum vorhanden seien: ein spezifischer, durch Infektion bedingter Abwehrstoff im Sinne der Immunantikörper; außerdem ein unspezifischer im Sinne der Normalantikörper, der von vorneherein im Serum vorliege und als Vorläufer der Immunantikörper anzusehen sei. L o v e l l (1934) dagegen erklärt das Vorkommen der Normalantikörper mit einer Stimulation durch Bakterien, die normalerweise schon im Intestinaltrakt von Tieren vorhanden sind. Im Gegensatz dazu kommt I n g a l l s (1937) anhand seiner Untersuchungen zu der Ansicht, daß zwar auf exogene Stimulationen spezifische Abwehrstoffe gegenüber homologen und heterologen Haptenen gebildet werden, daß aber auch ein Reifungsprozeß der Antikörper-bildenden Mechanismen ablaufen müsse.

Seit K e o g h, N o r t h und W a r b u r t o n (1947) zum ersten Mal die Möglichkeit beschrieben, Antigen aus H.influenzae an Erythrozyten zu adsorbieren und mit dem homologen Serum den Antigen-Erythrozyten-Komplex zu agglutinieren, war mit der daraus entwickelten Methode der indirekten Hämagglutination ein neuer Weg zur Lösung der Fragen um die Normalantikörper gegeben. Im Gegensatz zu der auf

K r a u s und L u d w i g (19o2) zurückgehenden Methode der direkten Hämagglutination handelt es sich hierbei um eine echte Antigen-Antikörper-Reaktion.

> Zur i n d i r e k t e n (bedingten oder passiven) Hämagglutination werden an die Oberfläche von Erythrozyten gelöste Antigene adsorbiert. Dieser Vorgang, durch den die Erythrozyten eine neue serologische Spezifität gewinnen, wird als Sensibilisierung oder Modifikation der Erythrozyten bezeichnet. Werden dann homologe Antikörper an das Antigen im Sinne einer Antigen-Antikörper-Reaktion gebunden, so sind die Erythrozyten entsprechend dem Agglutinationsgrad verballt. So wird das Ergebnis der Antigen-Antikörper-Reaktion schon mit blossem Auge sichtbar.

N e t e r hat dann 1956 eine zusammenfassende Darstellung über die verschiedenen Typen mikrobieller Hämagglutination geschrieben, worin er auch auf die praktischen Anwendungsmöglichkeiten einging. Dabei erwies sich die indirekte Hämagglutination beim Vergleich mit den anderen üblichen serologischen Methoden zum Nachweis von Antikörpern als die empfindlichste Untersuchungsart (G a i n e s und L a n d y, 1955; N e t e r, W e s t p h a l, L ü d e r i t z, G i n o und G o r z y n s k i, 1955; N e t e r, 1956; R a b e, 1954). Wie zahlreiche Absorptionsversuche ergeben haben, sind die in der indirekten Hämagglutination nachgewiesenen Antikörper als spezifisch anzusehen (N e t e r, B e r t r a m, Z a k, M u r d o c k und A r b e s m a n, 1952; N e t e r, Z a l e w s k i und F e r g u s o n, 1953; N e t e r, W e s t p h a l, L ü d e r i t z, G i n o und G o r z y n s k i, 1955), wobei die von M i l g r o m (1956)

aufgrund seiner experimentellen Resultate vorgeschlagenen Theorie der Multispezifität der natürlichen Antikörper zur Erklärung mancher Phänomene einleuchtend erscheint.

Im folgenden werden Ergebnisse der Prüfung von Kinderseren mit der nach N e t e r modifizierten Methode der indirekten Hämagglutination mitgeteilt (B a d e r, 1964; K i e n i n g e r, 1964). Dabei werden die Seren mit fünf verschiedenen Bakterienantigenen auf ihren Gehalt an Normalantikörpern geprüft. Da in den Seren Erwachsener mit der indirekten Hämagglutination Agglutinine nachweisbar sind, die erfahrungsgemäß bei Neugeborenen noch nicht vorhanden sind, sollte untersucht werden, zu welchem Zeitpunkt der kindlichen Entwicklung diese Hämagglutinine zum ersten Mal erscheinen. Weiter war dann zu prüfen, ob sie für alle Teststämme gleichzeitig auftreten.

B - Material und Methodik

Die für die Titerbestimmungen angewandte Methode der indirekten Hämagglutination entspricht der im Tübinger Hygiene-Institut allgemein üblichen Versuchsanordnung (K i e n i n g e r, 1964).

I - Material

1. Trägerpartikel:

Für die indirekte Hämagglutination wurden aus defibriniertem Hammelblut gewonnene Erythrozyten verwendet, die mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschließend 1o Minuten bei 3ooo Umdrehungen/min zentrifugiert wurden. Dieser Waschvorgang wurde solange wiederholt, bis der Überstand völlig klar war, mindestens aber dreimal. Aus dem letzten Sediment wurde mit physiologischer Kochsalzlösung eine Erythrozyten-Suspension in der Verdünnung 1:5oo hergestellt.

2. Bakterienstämme:

Für alle Untersuchungen wurde von folgenden Stämmen der Eubacteriales ausgegangen (B r e e d, M u r r a y und S m i t h, 1957) :

a) Aus der Familie der Enterobacteriaceae:
Escherichia coli Typen O 111, O 55 B5 und O 86 B7.

Diese drei E.coli-Stämme hatten sich derzeit im Krankengut der Universitäts-Kinderklinik Tübingen als häufigste Erreger der Säuglingsdyspepsien erwiesen. Da die verschiedenen Errger der Coli-Enteritis regional und innerhalb verschiedener Zeit-

Zeiträume in unterschiedlicher Häufigkeit angetroffen werden (A d a m, 1956), ist diese Typenauswahl für die folgende Untersuchung zweckmäßig, um eine möglichst allgemeine Durchseuchung des Krankengutes voraussetzen zu können. Damit besteht dann ein deutlicher Unterschied in der Durchseuchungsrate zwischen den drei überall vorhandenen E.coli-Typen und den unter b) und c) aufgeführten Bakterienstämmen, von denen ein weitaus selteneres Vorkommen angenommen werden darf.

b) Ebenfalls aus der Familie Enterobacteriaceae:
Salmonella typhi, Stamm O 9o1 W;
dies ist der Stamm 59 der internationalen Salmonellenzentrale Kopenhagen (K a u f f m a n n, 1954).

c) Aus der Familie der Brucellaceae:
Pasteurella pseudotuberculosis Typ III (Stamm 342).

Dieser Typ wurde ausgewählt, da von ihm bis heute keine Antigenverwandtschaft mit den Enteritiserregern bekannt ist.

3. Antigene:

Obige Bakterienstämme wurden auf Nährbouillon überimpft und darin - bei einer Bebrütungstemperatur von 37°C für die Stämme von E.coli und S.typhi und von 22°C für Pasteurella pseudotuberculosis - innerhalb von ungefähr zwölf Stunden angereichert.

Danach wurden diese Kulturen auf Nähragar ausgespatelt, wobei für die Escherichia coli und S.typhi

Drigalski-Schalen, für die Züchtung von Pasteurella pseudotuberculosis dagegen zweckmäßigerweise Kolle-Flaschen verwendet wurden, um bei der längeren Bebrütungsdauer von 48 Stunden bei 22°C vor störenden Verunreinigungen sicher zu sein. Dabei kamen pro Drigalski-Schale, bzw. Kolle-Flasche 3 ml bakterienhaltige Bouillon zur Verimpfung.

Im Anschluß an die 24-stündige Bebrütung bei 37°C wurde der Bakterienrasen mit je 3 ml physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und diese Bakteriensuspension 1 Stunde bei 120°C autoklaviert. Dann wurde mit einer Laboratoriumszentrifuge 90 Minuten bei 3000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Der Überstand wurde als gelöstes Antigen verwendet, das Sediment verworfen.

4. Seren:

Die zur Untersuchung gelangten Seren stammten aus der Universitäts-Kinderklinik Tübingen und der Städt. Kinderklinik Stuttgart, wobei primär keine Auswahl nach klinischen Gesichtspunkten getroffen wurde. Zusätzlich wurden noch gezielt Seren von solchen Säuglingen untersucht, die als Frühgeburten geboren worden waren. Die Seren, die nicht sofort untersucht werden konnten, wurden im Kühlschrank bei + 4°C aufbewahrt.

Da im Humanserum - bei den einzelnen Individuen in unterschiedlicher Konzentration - Heteroagglutinine gegen Hammelerythrozyten vorhanden sind, wurde jedes Serum vor seiner Verwendung mit konzentrierten Hammelerythrozyten im Verhältnis 1:3 während 1 Stunde im Wasserbad bei 37°C und unge-

fähr 12 Stunden im Kühlschrank bei + 4°C abgesättigt. Um eine Hämolyse der Hammelerythrozyten durch das im Serum enthaltene Komplement zu vermeiden, wurde dieses vor der Absättigung durch Erhitzen auf 57°C im Wasserbad in 3o Minuten zerstört. Wie L o v e l l s Untersuchungen (1934) an Schweine- und Hammelseren zeigten, bewirkt dieser Grad der Erhitzung beim Inaktivierungsvorgang keine Reduktion des Antikörpertiters.

II - Methodik

1. Antigentiterbestimmung:

Zur Prüfung des Antigens auf seine Wirksamkeit wurden je o,25 ml Antigen in einer geometrischen Verdünnungsreihe, beginnend mit konzentriertem Antigen bis zu einer Endverdünnung von 1:512, an jeweils o,25 ml Erythrozyten-Suspension innerhalb von 3o Minuten im Wasserbad von 37°C angelagert. Zur Entfernung überschüssigen Antigens wurde anschließend das Gemisch mit physiologischer Kochsalzlösung dreimal ausgewaschen und das letzte Sediment in jeweils o,5 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen.

Mit je o,5 ml eines 1:2o verdünnten Serums mit bekanntem Antikörpergehalt lief die Hämagglutinationsreaktion im Wasserbad von 37°C während 3o Minuten ab. Anschließend wurde das Antigen-Erythrozyten-Antikörper-Gemisch 3 Minuten lang bei 3ooo Umdrehungen/min zentrifugiert und nach kurzem Aufschütteln der Reaktionsausfall makroskopisch abgelesen.

Aus den auf diese Weise ermittelten Titern (für

E.coli O 111, O 55 B5 und für S.typhi ein Titer von 1:512, für E.coli O 86 B7 von 1:128 und für Pasteurella pseudotuberculosis von 1:64) ergaben sich nach Zuschlag der üblichen Sicherheitsgrenze von zwei Titerstufen folgende Antigenverdünnungen, mit denen bei allen Serumtiterbestimmungen gearbeitet wurde:

1:5o für E.coli O 111 und O 55 B5
für S.typhi
1:2o für E.coli O 86 B7
für Past.pseudotuberculosis

2. Serumtiterbestimmung:

Von den abgesättigten Seren wurden Verdünnungen von 1:5o bis 1:8oo fallend in einer geometrischen Reihe hergestellt. Bei einer positiven Agglutination in der Verdünnung 1:8oo wurden fünf weitere Verdünnungsstufen geprüft, um in jedem Fall den Titer zu bestimmen.

Zu je o,5 ml verdünntem Serum wurde o,5 ml an Erythrozyten adsorbiertes Antigen gegeben. Zur Adsorption wurden gleiche Teile Antigen mit gleichen Teilen Erythrozyten-Suspension - wie zur Antigentiterbestimmung - während 3o Minuten im Wasserbad von 37°C gehalten.

Die Hämagglutinationsreaktion vollzieht sich dann im Antigen-Erythrozyten-Antikörper-Gemisch innerhalb von 3o Minuten im Wasserbad von 37°C. Dieses Gemisch wird 3 Minuten lang bei 3ooo Umdrehungen/min zentrifugiert und dann der Reaktionsausfall abgelesen.

Die Stärke der Agglutination wird makroskopisch beurteilt und dabei der stärkste Grad mit +++ bezeichnet,

was einer Agglutination der Erythrozyten in kompakten Klümpchen bei absoluter Klärung der Suspensionsflüssigkeit entspricht. Tritt trotz deutlicher Erythrozytenagglutination keine vollständige Klärung ein, so wird dies mit ++ bewertet.

3. Um Fehlbestimmungen durch unspezifische Mitagglutinationen zu vermeiden, wurden bei jeder Untersuchung folgende Kontrollen angesetzt:

a) zur Überprüfung der Stabilität des Antigens: Antigen-beladene Erythrozyten mit physiologischer Kochsalzlösung statt Serum;
b) zur Überprüfung des Serums auf Heteroagglutinine gegen Hammelerythrozyten wurden unbeladene Erythrozyten mit Serum inkubiert.

4. Mit der allgemein bekannten Gruberschen Objektträger-Agglutination wurde jedes Serum in der Verdünnung 1:25 mit allen fünf Bakterienstämmen auf direkt mit der Bakteriensuspension reagierende Antikörper getestet.

C - Ergebnisse

Insgesamt wurden 21o unausgewählte Seren von Kindern verschiedener Altersstufen untersucht, die sich nach Prüfung von Anamnese und klinischen Befunden wie folgt zusammensetzten:

183 Seren stammten von Patienten ohne manifeste Infektion mit einem der betreffenden Untersuchungsstämme; diese konnten also im folgenden als „Normalseren" betrachtet werden. Sie lassen sich in 99 Seren männlichen und 84 weiblichen Ursprungs aufgliedern.

8 Seren waren von ehemals Frühgeborenen mit einem Alter von 5 bis 15 Wochen am Untersuchungszeitpunkt.

6 erwiesen sich als Seren von Kindern mit einer manifesten E.coli - Infektion.

5 Seren konnten nicht ausgewertet werden, da die Kinder als Neugeborene Blutaustauschtransfusionen erhalten hatten.

2 Kinder hatten sich bereits intrauterin mit Listeria monocytogenes infiziert. Neben den klinischen Befunden war diese Diagnose in einem Fall auch durch die Komplementbindungs- und Agglutinationsreaktion erhärtet worden.

6 von den 21o Seren zeigten Agglutinine für das Typhus-Antigen in der Objektträgeragglutination. Da aber klinisch keinerlei Hinweise auf frühere oder derzeitige typhöse Erkrankungen vorlagen und auch keine Dauerausscheider in den betreffenden Familien bekannt sind, dürften diese Agglutinine durch Reize

der zahlreichen verwandten Partialantigene entstanden sein. Dies ist um so mehr anzunehmen, als sonst für keinen der vier anderen Teststämme entsprechende bakterielle Agglutinine nachweisbar waren. In der indirekten Hämagglutination erreichten diese Seren mit bakteriellem Agglutinationsvermögen für S.typhi Titer zwischen 1:2oo (bei einjährigen Kindern) und 1:16oo (bei zwölfjährigen), was noch der oberen Grenze für die betreffende Altersgruppe entspricht. Gleichzeitig zeigten diese Seren aber auch gegen die vier anderen Untersuchungsstämme Titer, die in ihrer Höhe denen gegen das Typhus-O-Antigen nicht nachstehen.

1. Altersabhängigkeit des Normalantikörpertiters:

Von den 183 untersuchten Seren entfielen auf die einzelnen Altersstufen die in Tab.1 angegebenen Zahlen, aus denen durch arithmetische Mittelung der einzelnen Titer (+++ und ++ wurden dabei als gleichwertig betrachtet) die zugehörigen Durchschnittstiter für die verschiedenen Altersgruppen errechnet wurden. Diese Werte sind der Abb.1 zugrunde gelegt. Durch Auf- oder Abrunden dieser rechnerisch bestimmten Titer in die Titerstufen der Versuchsserien ergeben sich die Werte der Tab.1. Zu diesen gerundeten durchschnittlichen Titern werden jeweils der niedrigste und höchste der experimentell bestimmten Titer angegeben, um ein ungefähres Bild der physiologischen Streubreite aufzuzeigen.

Aus der Tab.1 und den Abb.1 und 2 ist eindeutig zu ersehen, daß mit zunehmendem Alter der Kinder der Agglutiningehalt ihrer Seren für die untersuchten

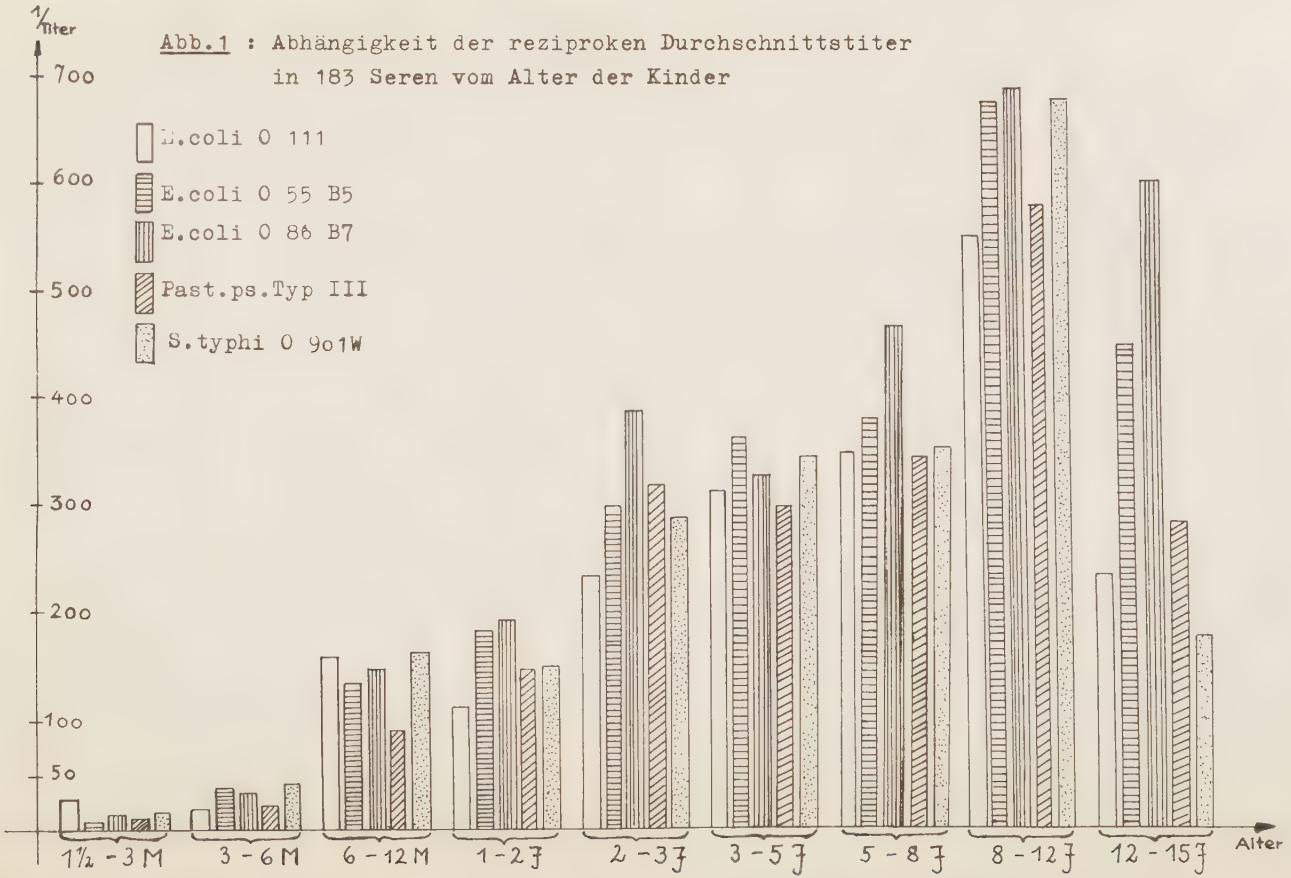
fünf Antigene kontinuierlich ansteigt.

Das stärkste Agglutinationsvermögen wiesen dabei sechs Seren auf, bei denen Titer von 1:3200 nachweisbar waren. Diese Seren stammten von Kindern im Alter zwischen neun und fünfzehn Jahren.

Der Zeitabschnitt im Laufe der kindlichen Entwicklung, in dem die in der indirekten Hämagglutination bestimmbaren Normalantikörper auftreten, kann besonders dann festgelegt werden, wenn man die Zahl der Seren ansieht, bei denen überhaupt Agglutinine nachweisbar waren, die also mindestens einen Titer von 1:50 zeigten. Wie aus Tab.2 zu ersehen ist, nimmt diese Zahl mit steigendem Alter der Kinder zu, wobei der entscheidende Anstieg im Zeitraum zwischen 6 und 24 Monaten liegt.

Drückt man diese absoluten Zahlenangaben der Seren mit einem Titer von 1:50 oder darüber in Prozenten der Gesamtzahl der entsprechenden Altersgruppe aus, so ergeben sich die in Tab.2 in Klammern angegebenen Werte. Dieses rechnerische Vorgehen ist zwar bei der kleinen Zahl der Messungen statistisch nicht zulässig, ist aber nötig, um mit Messungen anderer Autoren (N e t e r, 1955; Y e i v i n und Mitarbeiter, 1956) vergleichen zu können. Betrachtet man den prozentualen Anteil der Seren mit einem Titer von 1:50 und darüber - mit den oben angeführten Vorbehalten - so zeigt sich, daß im Laufe des zweiten Lebensjahres mit 92 bis 96% mindestens in der Verdünnung 1:50 agglutinierenden Seren nahezu die Erwachsenenwerte von 96 bis 100% erreicht werden.

Abb.1 : Abhängigkeit der reziproken Durchschnittstiter in 183 Seren vom Alter der Kinder



Tab.1: Reziproke Werte der durchschnittlichen Antikörper-Titer von 183 Seren
Jeweils daneben sind die niedrigsten und höchsten Meßwerte angegeben.

Alter d.Kinder	0-1,5M	1,5-3M	3-6 M	6-12 M	1-2 J	2-3 J	3-5 J	5-8 J	8-12 J	12-15J
Zahl d.Seren	11	11	19	3o	25	11	15	19	2o	22
E.coli O 111	<5o	<5o 5o 1oo	<5o <5o 5o	<5o 2oo 16oo	<5o 1oo 2oo	<5o 2oo 8oo	5o 4oo 16oo	<5o 4oo 32oo	5o 4oo 32oo	<5o 2oo 8oo
E.coli O 55 B5	<5o	<5o <5o 5o	<5o 5o 1oo	<5o 2oo 16oo	<5o 2oo 8oo	5o 2oo 8oo	<5o 4oo 16oo	<5o 4oo 32oo	5o 8oo 32oo	<5o 4oo 32oo
E.coli O 86 B7	<5o	<5o <5o 5o	<5o 5o 2oo	<5o 1oo 16oo	<5o 2oo 8oo	5o 4oo 16oo	5o 4oo 8oo	5o 4oo 32oo	1oo 8oo 32oo	5o 4oo 32oo
Past.ps.Typ III	<5o	<5o <5o 1oo	<5o <5o 1oo	<5o 1oo 4oo	<5o 1oo 4oo	5o 1oo 16oo	<5o 2oo 8oo	<5o 4oo 32oo	<5o 4oo 32oo	<5o 2oo 16oo
S.typhi O 9o1W	<5o	<5o 5o 1oo	<5o 5o 1oo	<5o 2oo 16oo	<5o 2oo 4oo	5o 2oo 8oo	5o 4oo 16oo	5o 4oo 32oo	1oo 8oo 32oo	5o 4oo 16oo

Tab.2: Zahl der Seren mit einem Titer von 1:5o oder darüber. Die Prozentwerte in Klammern beziehen sich auf die Gesamtzahl pro Altersgruppe, wobei aber wegen der kleinen Zahl der Seren kein Anspruch auf statistische Signifikanz besteht.

Alter d.Kinder	o-1,5	1,5-3	3-6M	6-12M	1-2 J	2-12J	12-15J
Zahl d.Seren	11	11	19	3o	25	65	22
E.coli O 111	0	5	7	16	23	63	21
	(0%)	(45%)	(39%)	(54%)	(92%)	(97%)	(96%)
E.coli O 55 B5	0	3	9	2o	24	62	21
	(0%)	(27%)	(5o%)	(67%)	(96%)	(96%)	(96%)
E.coli O 86 B7	0	5	7	21	24	65	22
	(0%)	(45%)	(39%)	(7o%)	(96%)	(100%)	(1oo%)
Past.ps.TypIII	0	3	6	2o	24	62	21
	(0%)	(27%)	(33%)	(67%)	(96%)	(96%)	(96%)
S.typhi O 9o1W	0	6	1o	21	24	65	22
	(0%)	(54%)	(56%)	(7o%)	(96%)	(1oo%)	(1oo%)

2. Korrespondierender Titeranstieg für alle untersuchten Antigene:

Wie aus Abb.1 zu entnehmen ist, steigen innerhalb jeder Altersgruppe die Durchschnittstiter der Seren gegen alle untersuchten Antigene nahezu parallel an. Eine entsprechende Parallelität wird auch bei Überprüfung aller 183 Seren ohne Berücksichtigung der Altersklassen deutlich (Abb.2).

Ebenso traten im Serum der Kinder mit einem E.coli-Infekt nicht allein Antikörper gegen den entsprechenden Krankheitserreger auf, sondern alle diese

Seren besaßen auch für die anderen vier Untersuchungsstämme Agglutinine in gleicher oder höchstens um eine Stufe geringerer Stärke.

Bei den allgemein bekannten regionalen und zeitlichen Schwankungen im Auftreten der säuglingspathogenen Stämme von E.coli (A d a m, 1956) ist es interessant, daß zur Zeit der Untersuchung das O 86 - Antigen die stärkste Antikörperreaktion hervorzurufen scheint, wie aus Abb.2 zu entnehmen ist.

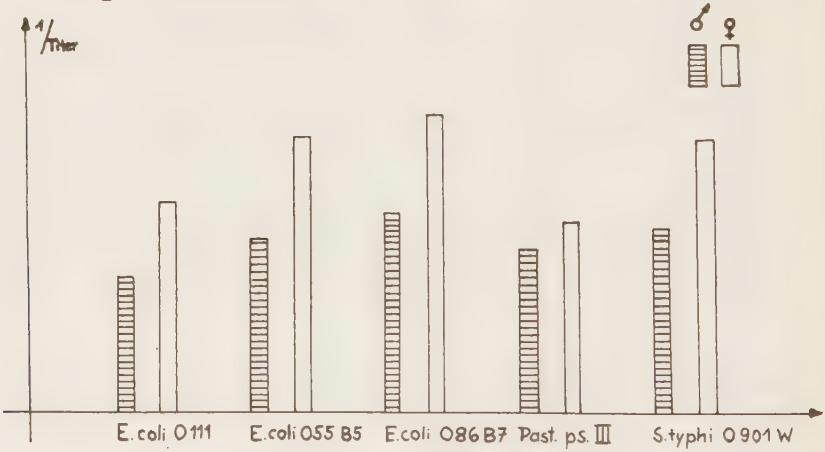


Abb.2: Reziproke Durchschnittstiter bei Mädchen und Jungen bei einer Mittelung der Werte über alle Altersstufen.

3. Geschlechtsabhängigkeit der Antikörpertiter:

Zuerst wurden für jede Altersklasse getrennt die Durchschnittstiter auf ihre Geschlechtsabhängigkeit geprüft. Dabei ergab sich - bei allen fünf Stämmen in gleicher Weise - ein geringgradig höherer Titer für die Seren

weiblicher Kinder. Da pro Altersgruppe bei einer Untergliederung in Mädchen und Jungen zu wenig Seren zur Untersuchung verwendet wurden, um eine gültige Aussage über die Geschlechtsabhängigkeit der Antikörperbildung machen zu können, wurden alle Seren noch unabhängig vom Alter der Kinder geprüft. Bei dieser Betrachtungsweise zeigte sich, daß Mädchen einen deutlich höheren Titer an in der indirekten Hämagglutination nachweisbaren Normalantikörpern aufwiesen als Jungen (Tab.3 und Abb.2).

Tab.3: Geschlechtsabhängigkeit der Durchschnittstiter bei 183 Seren (reziproke Werte), in Klammern auf- oder abgerundet auf volle Titerstufen.

	männlich	weiblich
Zahl der Seren	99	84
E.coli O 111	127 (1oo)	197 (2oo)
E.coli O 55 B5	16o (2oo)	257 (2oo)
E.coli O 86 B7	183 (2oo)	275 (2oo)
Past.ps. TypIII	151 (2oo)	176 (2oo)
S.typhi O 9o1 W	171 (2oo)	252 (2oo)

4. Frühgeburten:

In acht Seren ehemals zu früh geborener Kinder konnten Antikörper in einer Konzentration nachgewiesen werden, die mindestens derjenigen im Serum der Kinder entspricht, die nach normaler Schwangerschaftsdauer geboren wurden.

Bereits das Serum eines erst 37 Tage alten Jungen wies einen Titer von 1:5o für die beiden E.coli-Typen O 111 und O 55 B5 auf; Titer in dieser Höhe erreichte keines der rechtzeitig geborenen Kinder zu einem solch frühen Zeitpunkt.

Bei den jüngeren Kindern scheinen zuerst die Antikörper gegen die Typen von E.coli aufzutreten, da solche in sieben der acht Seren nachweisbar waren, während die Normalantikörper gegen das O-Antigen von S.typhi nur in drei Seren und gegen das Antigen der Pasteurella pseudotuberculosis sogar nur in einem Serum vorlagen.

Bei einem Vergleich mit 18 Kindern im Alter von 35 bis 1oo Tagen, die aber nach regelrechter Schwangerschaftsdauer geboren wurden, fällt auf, daß die Seren von Frühgeborenen einen höheren Durchschnittstiter, insbesondere für die Antikörper gegen E.coli-Antigene, erreichten (Tab.4). Allerdings waren die Titer bei Frühgeburten häufiger mit ++ zu bewerten als bei den rechtzeitig geborenen Kindern.

Bei der geringen Zahl der untersuchten Seren, deren Beschaffung bei Frühgeburten naturgemäß sehr schwierig ist, besteht kein Anspruch auf Signifikanz dieser Angaben.

Ob die höheren Titer bei Frühgeburten allein auf der Tatsache beruhen, daß sie seit dem Tage ihrer Geburt im Kliniksmilieu aufgewachsen sind und dadurch vermehrt mit den entsprechenden Keimen im Sinne des Hospitalismus in Berührung kamen, kann hier nicht entschieden werden, da nur zwei Kinder zum Vergleich herangezogen werden konnten, die ebenfalls seit ihrer Geburt in der

Klinik lebten, aber nach normaler Schwangerschaftsdauer geboren wurden. Beide Kinder mit einem Alter von 3 und 1o Monaten wiesen allerdings Titer auf, die höchstens der unteren Grenze ihrer Altersklasse entsprachen.

Tab.4: Reziproke Durchschnittstiter bei Frühgeburten und zum Vergleich bei Normalgeborenen desselben Alters.

	Frühgeburten	Normalgeborene
Zahl der Seren	8	18
E.coli O 111	31	19
E.coli O 55 B5	38	11
E.coli O 86 B7	31	14
Past.ps.Typ III	13	11
S.typhi O 9o1 W	19	19

5. Escherichia coli - Dyspepsien:

Bei sechs Kindern waren bakteriologisch säuglingspathogene E.coli nachgewiesen worden. Eines dieser sechs Kinder war an einer eitrigen Coli-Meningitis erkrankt, die schon zwei Monate vor meinen Untersuchungen bakteriologisch nachgewiesen worden war. Dieses sich in der Rekonvaleszenzphase befindende Kind zeigte in seinem Serum keinen höheren Normalantikörpertiter als gleichaltrige gesunde Kinder. Dagegen fanden sich in den Seren der anderen fünf akut an einer Dyspepsie erkrankten Kinder Titer, die weit höher lagen als bei gesunden Kindern des gleichen Alters (Tab.5).

Tab.5: Titer bei 5 Kindern mit einer Coli-Dyspepsie (reziproke Werte)

Alter	12 Tage	2o Tage	26 Tage	7.Monat	9.Monat
E.coli O 111	5o	1oo	5o	2oo	2oo
E.coli O 55 B5	<5o	5o	5o	2oo	1oo
E.coli O 86 B7	1oo	<5o	5o	2oo	2oo
Past.ps.Typ III	1oo	1oo	5o	4oo	1oo
S.typhi O 9o1 W	5o	1oo	5o	2oo	2oo

6. Congenitale Listeriose:

Bei einem dreizehn Tage alten Jungen, der am Tage nach der Serumtiterbestimmung unter dem Verdacht einer congenitalen Listeriose verstarb, fanden sich Serumtiter von 1:2oo, bzw. 1:2oo für die fünf Testantigene.

Bei einem 58 Tage alten Jungen mit serologisch gesicherter Listeriosediagnose zeigte sich ebenfalls bei einer Serumverdünnung von 1:1oo, bzw. 1:2oo ein Antikörpertiter gegen die fünf Testantigene.

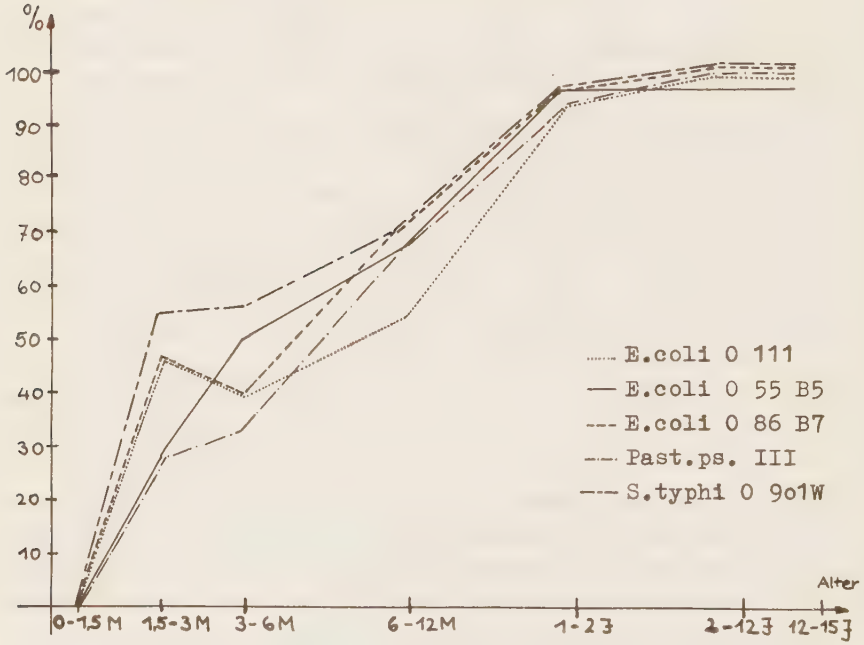
Bei einem Vergleich mit den Durchschnitts- und Maximalwerten der entsprechenden Altersgruppe (aus Tab.1) liegen diese Ergebnisse eindeutig höher als die Titer gesunder Kinder.

D - Diskussion

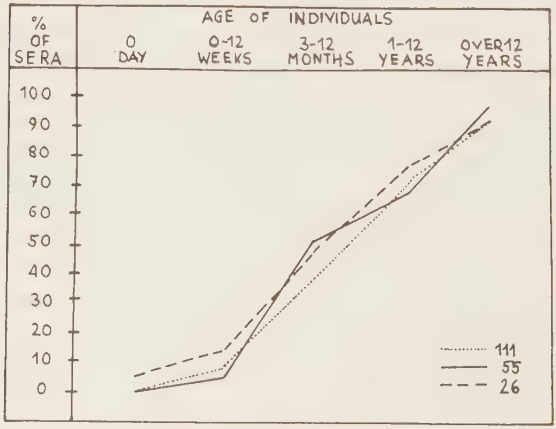
Wie die Tabellen 1 und 2 und Abbildung 1 veranschaulichen, steigt der Gehalt an Normalantikörpern gegen alle fünf untersuchten Antigene mit dem Lebensalter an.

Mit der indirekten Hämagglutination wies auch N e t e r (1955) Antikörper gegen E.coli O 111, O 55 und O 26 im Serum von Kindern verschiedenen Alters ohne Enteritis nach. Er fand gleichfalls um so mehr Seren mit E.coli-Hämagglutininen, je älter die Kinder waren: bei weniger als 14% der Seren von Kindern bis zu einem Alter von drei Monaten war ein Titer nachweisbar, dagegen bei über 90% der mehr als zwölfjährigen. Dabei ging aber N e t e r von einer Serumverdünnung von 1:10 zur Ermittlung des niedrigsten Titers aus, während bei obigen Untersuchungen die unterste Grenze der Serumverdünnungen bei dem Wert 1:50 lag. N e t e r fand einen entscheidenden Titeranstieg im Alter zwischen drei und zwölf Monaten, wobei er am Ende des ersten Lebensjahres Normalantikörper in 38% (für O 111), bzw. 49% (für O 55) der Seren nachweisen konnte. Bei ungefähr entsprechender Fallzahl in demselben Zeitraum zeigten 48% (für O 111), bzw. 61% (für O 55) der von mir geprüften Seren Antikörper. Bei einer weiteren Aufgliederung des Zeitraumes von eins bis zwölf Jahren, in dem N e t e r 69% (für O 111), bzw. 67% (für O 55) Seren mit einem Antikörpertiter fand, stellte ich anhand meiner Untersuchungsergebnisse fest, daß der wesentliche Anstieg der Normalantikörpertiter im Zeitabschnitt zwischen drei Monaten und zwei Jahren liegt, wobei im Laufe des zweiten Lebensjahres dann mit 92 - 96% positiven Seren fast Erwachsenenwerte (96 - 100%) erreicht werden. Dieser Vergleich läßt sich auch anhand der Abb.3 und der Abbildung aus der Arbeit von N e t e r ziehen.

Abb.3: Prozentualer Anteil der Seren mit einem Titer von 1:5o oder darüber. (Bei diesen Werten muß allerdings berücksichtigt werden, daß sie statistisch nicht gesichert sind.)



ESCHERICHIA COLI HEMAGGLUTININS IN RANDOM HUMAN SERA (Abb. nach N e t e r)



Die weitgehende Übereinstimmung der Titerentwicklung ist aus diesen Abbildungen deutlich zu erkennen.

In einer Arbeit von Y e i v i n und Mitarbeitern (1956), die auch mit einer nach N e t e r modifizierten Methode Untersuchungen über Normalantikörper gegen Enteritiserreger anstellten, unter anderem auch gegen E.coli vom Serotyp O 111 und O 55, finden sich wesentlich niedrigere prozentuale Anteile an Seren mit Antikörpertiter. So erreichten bei diesen Autoren nur 22% (für O 111), bzw. 28% (für O 55) der einjährigen Kinder einen Antikörpertiter, und sogar bei den über fünfzehnjährigen finden sich nur 79% (für O 111), bzw. 74% (für O 55) Seren mit nachweisbaren Antikörpern. Überdies liegen die in dieser Arbeit angegebenen Titer weit unter den von mir ermittelten Werten. Dabei stehen Durchschnittstiter von 1:11 (für O 111) und 1:16 (für O 55) bei der Altersgruppe der Einjährigen den aus Abb.1 ersichtlichen Werten von 1:153 (für O 111) und 1:163 (für O 55) gegenüber, die in Tab.1 jeweils auf die volle Titerstufe von 1:200 aufgerundet sind. Der von Y e i v i n und Mitarbeitern gefundene Gipfel der durchschnittlichen Titerwerte in der Altersgruppe der Vier- bis Fünfjährigen mit 1:74 (für O 111), bzw. 1:72 (für O 55) läßt sich aus meinen Ergebnissen nicht ablesen. Es fand sich im Gegenteil ein kontinuierlicher Anstieg der Durchschnittstiter.

Ebenso finden G a i n e s und L a n d y (1955) bei ihren Untersuchungen von Normalseren auf ihren Antikörpergehalt gegen Pseudomonas aeruginosa einen mit zunehmendem Alter steigenden Titer: bei der Mehrzahl der von diesen Autoren untersuchten Kinder unter einem Jahr war kein Serumtiter nachweisbar, dagegen zeigten die Seren von über zwei Jahre alten Kindern Agglutinationen bei einer Verdünnung zwischen 1:7,5 und 1:960.

Ob diese Differenzen zwischen den einzelnen Arbeiten auf methodischen Unterschieden beruhen, läßt sich nicht klären.

Das aus meinen Versuchsergebnissen am deutlichsten ersichtliche Fehlen der Normalantikörper gegen die säuglingspathogenen E.coli besonders in den ersten Lebensmonaten scheint interessante Beziehungen zur Häufigkeit der Colienteritis im Säuglingsalter aufzuweisen. Diese dyspeptischen Erkrankungen treten am häufigsten in den ersten vier Lebensmonaten auf (A d a m, 1956; O c k l i t z und Mitarbeiter, 1954), wobei wiederum die jüngsten Kinder des ersten Trimenons bevorzugt befallen werden. Jenseits des sechsten Lebensmonats wird die Zahl infizierter Kinder immer niedriger (A d a m, 1956); nach D u p o n t (1955) kommen sogar 91% der 186 von ihr untersuchten Colienteritisfälle bei Kindern unter sieben Monaten vor.

Überdies handelt es sich bei der Säuglingsdyspepsie um eine „infectio minima", d.h. kleinste Keimmengen genügen zur Auslösung einer Dyspepsie, während Erwachsene bei einer experimentell erzeugten Erkrankung wesentlich größere Keimdosen aufgenommen haben müssen (F e r g u s o n und J u n e, 1952; N e t e r und Mitarbeiter, 1953). Das zeigen insbesondere die Fütterungsversuche mit E.coli O 55 B5, die N e t e r und Mitarbeiter an freiwilligen Erwachsenen durchgeführt haben. Weitere Fütterungsexperimente an Erwachsenen (B r a u n und H e n c k e l, 1951) zeigten, daß auch nach Neutralisierung des Magensaftes mit Natriumbikarbonat keine Erkrankungen auftraten, aber Titer von 1:1280 nachweisbar waren. Diese Ergebnisse zeigen in Übereinstimmung mit den klinischen Erfahrungen, daß Erwachsene resistent

sind, was vielleicht auf einem Schutz durch ihren höheren Normalantikörpergehalt beruhen dürfte.

Dieser mit zunehmendem Alter ständig steigende Antikörpergehalt spiegelt sich auch in der Relation zwischen dem Schweregrad einer Dyspepsie und dem Alter des erkrankten Kindes wider, denn der Häufung an Krankheitsfällen in den ersten vier Lebensmonaten geht auch eine solche der schwersten Formen streng parallel (O c k l i t z und S c h m i d t, 1954). Da also mit abnehmender Gesamtzahl infizierter Kinder die Zahl der Kinder mit einem nachweisbaren Normalantikörpergehalt im Serum steigt, liegt die Annahme nahe, in diesen Normalantikörpern einen Abwehrmechanismus zu sehen. Auch A d a m s o n und Mitarbeiter (1951) stellten das Fehlen von E.coli-Agglutininen im Blut Neugeborener und sehr junger Säuglinge als eventuellen Faktor für ihre geringe Resistenz diesen Keimen gegenüber heraus.

Ähnliches zeigen auch die Bakterizidie-Versuche von O c k l i t z und Mitarbeitern (1954) im Serum jüngerer Kinder, die eine um so höhere Resistenz der Dyspepsie-Coli-Bakterien gegen die bakterizide Kraft des Blutes offenbaren, je jünger ein Kind ist, während bei Erwachsenen kein Resistenzunterschied zwischen den Normal-Coli- und den Dyspepsie-Coli-Bakterien mehr besteht.

In Übereinstimmung mit meinen Ergebnissen über die Geschlechtsabhängigkeit des Normalantikörpergehalts fanden F r i e d b e r g e r und Mitarbeiter (1929) bei weiblichen Personen dauernd einen höheren Agglutiningehalt als bei männlichen. Im Gegensatz dazu wurden von L o v e l l (1934) bei 139 männlichen und 124 weiblichen Schweinen keine Geschlechtsunterschiede in der Höhe des Antikörpertiters festgestellt. Die von D u p o n t (1955)

bei 186 Kindern mit einer Enteritis festgestellte Erkrankungshäufigkeit von 45,7% bei Mädchen gegenüber 54,3% bei Jungen könnte auf dem geringeren Normalantikörpergehalt der Jungen beruhen, sofern diesen Normalantikörpern echte Abwehrfunktionen zukommen.

Das Vorkommen von Normalantikörpern, die im Serum des Säuglings zu einer bestimmten Zeit seiner Entwicklung erstmals nachweisbar werden, kann theoretisch auf verschiedene Entstehungsursachen zurückgeführt und durch mehrere Faktoren stimuliert werden:

1. Ihr Vorkommen ist von einem rein e n d o g e n e n Entwicklungsprozeß abhängig:
Nach einer gewissen Zeitspanne der unvollständigen Reife ist das Immunitätssystem so weit entwickelt, daß es die Normalantikörper als humorale Abwehrstoffe bilden kann. Sie könnten genau wie Makro- und Mikrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen bei der zellulären Abwehr unabhängig von der Umwelt des Individuums ohne die Einwirkung von Antigenen entstehen.
Damit bestünde der Begriff der S e r o g e n e s e, die zu einem bestimmten Zeitpunkt der Entwicklung abgeschlossen ist, zurecht.

2. Ihr Vorkommen beruht auf einer Stimulation durch e x o g e n e Faktoren:
Nach der fetalen Zeit im Uterus mit ihrer mangelnden Exposition gegenüber antigenen Reizen wird das Neugeborene den mannigfaltigen Umwelteinflüssen ausgesetzt, die den Organismus zur Antikörperbildung anregen. Dabei kann die Stimulation verschiedener Natur sein:
a) das homologe Antigen verursacht die Bildung homologer Antikörper .

b) Partial-Antigene lösen die Produktion verschiedener Antikörper aus.
c) Verwandte Antigene rufen mehrere Antikörper hervor.
d) Unspezifische Reize aus der Umwelt induzieren die Bildung von Normalantikörpern.

3. Ihr Vorkommen beruht zwar auf einer endogen präformierten Reaktionsform, die aber durch verschiedene exogene Einflüsse aktiviert wird.

a) Entweder braucht das ungeübte immunologische System des Neugeborenen eine bestimmte Anlaufzeit, bis es gelernt hat, auf die Auslösungsfaktoren der Umwelt Normalantikörper zu bilden. Diese Form der Genese von Normalantikörpern wäre demnach abhängig von einer sog. "werdenden Funktion" des Immunitätssystems, die sich mit der wachsenden Beanspruchung allmählich entwickelt.
b) Oder aber die eigene Antikörperbildung des Säuglings wird in den ersten Lebensmonaten durch die diaplazentar aufgenommenen mütterlichen Antikörper, die eine Halbwertszeit von ungefähr drei Wochen haben (H ä s s i g, 1964), gehemmt.

Diese theoretisch möglichen Entstehungsarten der Normalantikörper sollen im folgenden anhand der experimentellen Resultate erörtert werden unter gleichzeitiger Betrachtung der heutigen Kenntnisse über die immunbiologische Reifung.

Zu 1: Die Dauer der Serogenese wird sichtbar am zeitlichen Auftreten eigener Gamma-Globuline im kindlichen Serum, die frühestens vier Wochen nach der Geburt, meistens im dritten und vierten Lebensmonat erscheinen und im zweiten Lebensjahr den unteren Normalbereich der Erwachsenenwerte erreichen (H ä s s i g, 1964; W i l k e n, 1965). Die zeitliche Übereinstimmung der Normalantikörperbildung, wie sie aus meinen Versuchsergebnissen hervorgeht, mit dem Auftre-

Auftreten der Gammaglobuline legt den Gedanken nahe, in den Normalantikörpern lediglich einen weiteren Ausdruck der vollendeten Serogenese zu sehen, zumal die Normalantikörper gegen alle fünf Teststämme gleichzeitig auftraten und in gleicher Höhe im Serum vorlagen.

Außerdem schreitet die Involution der Thymusdrüse, der nach Untersuchungen an thymektomierten Mäusen eine zentrale Rolle bei der immunologischen Entwicklung zukommt (G ü n t h e r, 1964), ungefähr in gleichem Maße voran wie Gammaglobuline und Normalantikörper nachweisbar werden.

Zu 2: Die verschiedenartig gestaltete Umwelt scheint andererseits nach Untersuchungen an tierischen Zwillingen (M í c h i e und H o w a r d, 1962) einen deutlichen Einfluß auf die Höhe des Antikörpertiters zu nehmen. Daraus kann geschlossen werden, daß die Umwelt mit ihrem unterschiedlichen Antigenspektrum die Produktion von Antikörpern anregt.

Dieser Reiz durch die Umwelt kann aber wohl kaum so aufgefaßt werden, daß auf homologe Antigene die homologen Antikörper gebildet werden, da die Normalantikörper gegen die Stämme von E.coli, von denen man eine ubiquitäre Verbreitung annehmen darf, zum gleichen Zeitpunkt der kindlichen Entwicklung und in derselben Höhe nachweisbar werden wie die Normalantikörper gegen S.typhi und Pasteurella pseudotuberculosis, mit denen der Säugling wohl in den seltensten Fällen in Berührung gekommen sein wird.

Auch verwandte oder partielle Antigene können nicht so regelmäßig Teile der antigenen Umwelt sein, daß sich bei mehreren Autoren, die bestimmt Kinder eines verschiedenen Milieus untersuchten und überdies andere Keime als

Antigen verwandten, korrespondierende Ergebnisse über die Titerentwicklung ergeben würden. Es fanden aber sowohl G a i n e s und L a n d y (1955) gegen Pseudomonas aeruginosa als auch Y e i v i n und Mitarbeiter (1956) gegen verschiedene Shigellatypen einen ähnlichen Titeranstieg mit zunehmendem Alter der Kinder.

Diese Befunde sprechen dafür, wenigstens nicht ausschließlich den Kontakt des Organismus mit vielfältigen Antigenen für die Bildung der Normalantikörper verantwortlich zu machen.

Bemerkenswert ist, daß in den Seren von fünf Kindern mit einer bakteriologisch nachgewiesenen Coli-Dyspepsie wesentlich höhere Normalantikörpertiter vorlagen als ihrer Altersgruppe entsprochen hätte. Bei einem Kind mit einer Coli-Meningitis entsprach der Gehalt an Normalantikörpern zwei Monate nach der Ausheilung den altersüblichen Durchschnittswerten (siehe Tab.5). Dabei stiegen aber in allen sechs untersuchten Seren die Normalantikörper gegen die fünf Teststämme parallel an. Dieses Ergebnis steht in klarem Widerspruch zu den Befunden von N e t e r und Mitarbeitern (1955), die nur vermehrt Normalantikörper gegen den entsprechenden Typ von E.coli nachwiesen.

Für das ständige Bestehen der Normalantikörper in Normalseren muß aber ein dauernder Nachschub angenommen werden. Es könnten auch unspezifische Umwelteinflüsse zur Bildung von Normalantikörpern führen, in ähnlicher Weise wie z.B. Pferdeserum- oder Milchinjektionen bei Kaninchen eine Erhöhung des Agglutinintiters gegen menschliche Erythrozyten hervorrufen (H i r s z f e l d und H a l b e r, 1927).

Vielleicht deuten auch die Titerwerte in den von mir untersuchten Seren ehemaliger Frühgeburten (s.Tab.4) auf den Einfluß der Umwelt als Stimulator der Antikörperbildung hin: Dabei sind die Normalantikörpertiter in ihrer Höhe und in ihrem Auftreten ausschließlich vom Geburts-

termin, nicht aber von der Schwangerschaftsdauer abhängig. Außerdem ist zu erwähnen, daß bei den Frühgeburten, die seit ihrer Geburt im Kliniksmilieu aufwuchsen, die Normalantikörpertiter gegen die drei Typen von E.coli etwas höher lagen als diejenigen gegen die seltenen Erreger S.typhi und Pasteurella pseudotuberculosis. Vielleicht ist dieser Befund darauf zurückzuführen, daß säuglingspathogene Typen von E.coli in der Klinik im Sinne des Hospitalismus häufiger anzutreffen sind als in der häuslichen Umgebung eines Kindes. Allerdings fanden sich bei 2 rechtzeitig geborenen Kindern, die ebenfalls seit der Geburt in der Klinik lebten, keine erhöhten Normalantikörpertiter gegen die säuglingspathogenen Stämme von E.coli.

Auch H i t z i g (1961) stellte fest, daß Frühgeburten wie normalgeborene Kinder mit der eigenen Abwehrreaktion einsetzen. E i c h e n w a l d s und K o t s e v a l o v s Untersuchungen (1960) über die immunologische Reaktionsfähigkeit junger Säuglinge zeigen ebenfalls, daß die Antikörperbildung unabhängig von der Schwangerschaftsdauer beginnt. G ä r t n e r (1965) beschreibt, daß Frühgeburten besser reagieren als biologisch gleichaltrige, aber rechtzeitig geborene Kinder. Er sieht dies als Bestätigung dafür an, daß eine antigene Umwelt die Fähigkeit zu immunologischen Abwehrreaktionen schneller reifen läßt. Da nach den Messungen des Gammaglobulingehalts im Nabelvenenblut die größte Menge der mütterlichen Gammaglobuline in den letzten vier Schwangerschaftswochen auf den Fetus übertragen werden (P f a u, 1954), sind Frühgeburten mit einem wesentlich geringeren mütterlichen Gammaglobulinspiegel ausgestattet und deshalb vermehrt gezwungen, eigene Abwehrleistungen zu vollbringen. Nach meinen Untersuchungen sind sie sogar fähig, früher als ihre rechtzeitig geborenen Altersgenossen

die Reifung des Immunitätssystems zu beschleunigen. Im klaren Widerspruch dazu steht die Ansicht H ä s s i g s (1964), daß namentlich bei Frühgeburten die Eigenproduktion an Antikörpern mit Verspätung einsetze. Auch wenn man die kleine Zahl an untersuchten Seren in Betracht zieht, dürfte bei Frühgeburten nach meinen Untersuchungsergebnissen eine verzögerte Serogenese, als deren Maßstab die Normalantikörperproduktion wohl angesehen werden kann, unwahrscheinlich sein.

Zu 3: Nach obigen Gesichtspunkten scheint die Annahme einer Serogenese zwar nicht falsch zu sein, aber sie wird auf jeden Fall nicht ausschließlich vom Entwicklungsalter des Organismus bestimmt, sondern wie viele andere biologische Prozesse auch von exogenen Faktoren stimuliert und eventuell von zur Zeit noch unbekannten Einflüssen gehemmt.

Allerdings kann nicht angenommen werden, daß Umwelteinflüsse allein die Reifung des Immunitätssystems auslösen und eine keimfreie Umwelt eine ständige immunologische Unreife hervorrufen würde. Wie aus der Übersichtsdarstellung von G ü n t h e r (1964) über Versuche an Hühnern, Meerschweinen und Ratten, die unter sterilen Bedingungen zur Welt gebracht und keimfrei aufgezogen wurden, zu entnehmen ist, entwickeln diese keimfreien Tiere zwar keine Antikörper gegen Bakterien und andere Keime. Sie sind aber trotzdem fähig, immunbiologisch zu antworten, wenn sie Bakterien ausgesetzt werden: auf eine experimentelle Infektion mit dem Stamm O 111 B4 von E.coli bilden Hühner dieselben Anti-B-Titer wie normale Vergleichstiere, obwohl sie vorher nur ein Fünftel der normal vorhandenen Immunglobuline besaßen (H i t z i g, 1961), wobei aber ihre Reaktion etwas verzögerter eintritt (B a u e r und Mitarbeiter, 1964).

Es besteht also die Möglichkeit, daß die sog. "immunologische Nullperiode" des Neugeborenen und Säuglings nur die Zeit widerspiegelt, die nötig ist, um eine Antwort auf die ersten antigenen Stimulationen hervorzubringen. Tritt diese Antigeneinwirkung schon in utero ein, wie z.B. bei congenitaler Syphilis, Toxoplasmose oder Listeriose, so ist zu einem bestimmten Zeitpunkt der Schwangerschaft der Fetus wohl in der Lage, immunbiologisch zu antworten (Günther, 1964; S i l v e r s t e i n, 1962; S i l v e r s t e i n und Mitarbeiter, 1963; W i l k e n, 1965). Die von S i l v e r s t e i n (1962) festgestellte beschleunigte Reifung des lympho- und plasmazellulären Apparates bei einer intrauterinen Infektion zeigt sich auch bei meinen Untersuchungen in einer früher einsetzenden, bzw. erhöhten Agglutinationskraft in der indirekten Hämagglutination. Darauf scheinen jedenfalls die im Vergleich zu den Durchschnittstitern der entsprechenden Altersgruppe eindeutig erhöhten Titer in zwei Seren von Kindern mit congenitaler Listeriose hinzuweisen.

Nach all diesen Befunden wäre das Immunitätssystem des Neugeborenen bedingt reif und lediglich ungeübt, weshalb es zu einer aktiven Leistung eine längere Anlaufzeit braucht als bei älteren Individuen. Dann müßte aber dieser Zustand der bedingten Reife bereits vor dem Ende der Schwangerschaft erreicht sein, denn auch Frühgeburten bilden mindestens so bald wie rechtzeitig geborene Kinder Normalantikörper. Und ebenso ist die bereits im Mutterleib einsetzende immunologische Reaktionsfähigkeit bei congenitalen Infektionen als Zeichen einer durch Stimulation einsetzenden Funktion des Immunitätssystems zu werten, die anhand des Normalantikörpertiters beurteilt werden kann.

E - Zusammenfassung

(1) Mit der Methode der indirekten Hämagglutination wurde in 210 Kinderseren der Antikörpergehalt gegen Antigene von E.coli vom Serotyp O 111, O 55 B5 und O 86 B7, von Pasteurella pseudotuberculosis und von S.typhi bestimmt.

(2) In Normalseren stieg mit zunehmendem Alter der Kinder der Antikörpergehalt, wobei der entscheidende Titeranstieg im Altersabschnitt zwischen drei und vierundzwanzig Monaten lag. Bis zu einem Alter von eineinhalb Monaten waren keine Antikörper nachweisbar. Am Ende des zweiten Lebensjahres wurden fast Erwachsenenwerte erreicht.

(3) Die durchschnittlichen Normalantikörpertiter gegen die fünf getesteten Antigene stiegen parallel an.

(4) Mädchen wiesen höhere Durchschnittstiter auf als Jungen.

(5) Frühgeborene begannen mit der Normalantikörperbildung mindestens zum gleichen Zeitpunkt wie ihre rechtzeitig geborenen Altersgenossen.

(6) Bei Kindern mit congenitaler Listeriose fanden sich früher als bei ihren gesundern Altersgenossen Normalantikörpertiter für die fünf Teststämme.

(7) Aus diesen Befunden läßt sich auf eine Stimulation der Serogenese durch die Antigene der Umwelt schließen.

Literatur:

(1) Adam, A.: Säuglings-Enteritis, Thieme-Verlag, Stuttgart (1956)

(2) Adamson, C.A., G.Löfgren und C. Malmnäs: Antibodies in Mothers and Newborn Infants, Scand.J.Clin. & Lab.Invest., 3, 52 (1951)

(3) Bader, R.-E.: Die Latex-Geißel-Agglutination, Zeitschr.f.Hyg., 15o, 199 (1964)

(4) Bauer,H., E.Horowitz, K.C.Watkins und H.Popper: Immunologic Competence and Phagocytosis in Germfree Animals with and without Stress, J.Am.Med.Ass. 187, 715 (1964)

(5) Bordet,J.: Le Mécanisme de L'Agglutination, Ann. Inst.Pasteur 13, 225 (1899)

(6) Braun, O.H. und H. Henckel: Über epidemische Säuglingsenteritis, Zeitschr. Kinderh., 7o, 33 (1951)

(7) Breed, R.S., E.G.D. Murray und N.R. Smith: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed., The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1957

(8) Bürgi, E.: Über Bakterienagglutination durch normale Sera, Arch.Hyg. 62, 239 (19o7)

(9) Burnet, M.: Role of the Thymus and Related Organs in Immunity, Brit.Med.J., II, 8o7 (1962)

(1o) Dupont, A.: Bacteriological, Clinical and Epidemiological Studies on Epidemic Infantile Diarrhoe with Special Reference to E.coli (O 111 B4 and O 55 B5), Munksgaard, Kopenhagen, 1955

(11) Eichenwald, H.F. und O. Kotsevalov: Immunologic Responses of Premature Infants and Full-term

Infants to Infection with Certain Viruses, Pediatrics, 25, 829 (1960)

(12) Ferguson, W.W. und R.C.June: Experiments on Feeding Adult Volunteers with E.coli O 111 B4, a Coliform Organism associated with Infant Diarrhea, Am.J.Hyg., 55, 155 (1952)

(13) Friedberger, E., G. Bock und A. Fürstenheim: Zur Normalantikörperkurve des Menschen durch die verschiedenen Lebensalter und ihre Bedeutung für die Erklärung der Hautteste, Zeitschr.Imm.forsch., 64, 294 (1929)

(14) Gärtner, H.: Immunbiologische Probleme bei Schwangeren und Neugeborenen, Zeitschr.f.Geburtsh.und Gyn., 164/3, 225 (1965)

(15) Gaines, S. und M. Landy: Prevalence of Antibody to Pseudomonas in normal Human Sera, J.Bacteriol., 69, 628 (1955)

(16) Gibson, H.J.: Observations on the Occurence, Characteristics and Specifity of Natural Agglutinins, J.Hyg., 30, 337 (1930)

(17) Graetzer, M.A., W.P. Cote und H.R. Wolfe: The Effect of Bursectomy at different Ages on Precipitin and Natural Hemagglutinin Production in the Chicken, J.Immunol., 91, 576 (1963)

(18) Günther, O.: Der Thymus als primäres Immunitätsorgan, Dtsch.Med.Wschr., 89, 987 (1964)

(19) Günther, O.: Gibt es natürliche Antikörper?, Dtsch. Med.Wschr., 89, 2098 (1964)

(20) Günther, O.: Die Entwicklung der Immunität, Dtsch. Med.Wschr., 89, 2445 (1964)

(21) Hässig, A.: Immunglobuline und Infektabwehr, Wien. Med.Wschr., 114, 803 (1964)

(22) Halber, W., H. Hirszfeld und M. Mayzner: Untersuchungen über die Antikörperentstehung bei Kindern im Zusammenhang mit dem Alter, Z.Immun.forsch., 53, 391 (1927)

(23) Hirszfeld, H. und J. Seydel: Untersuchungen über die Vererbung normaler Antikörper, Zeitschr.Hyg., 1o4, 465 (1925)

(24) Hirszfeld, L. und W. Halber: Untersuchungen über die Reaktionsfähigkeit der Tiere, Z.Immun.forsch., 53, 419 (1927)

(25) Hitzig, W.H.: Immunität und Geburt, Schweiz.Med.Wschr., 38, 1o93 (1961)

(26) Ingalls, M.S.: A Contribution to the Nature and Origin of Natural Agglutinins, J.Immunol., 33, 123 (1937)

(27) Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae, Munksgaard, Kopenhagen, 1954

(28) Keogh, E.V., E.A.North und M.F.Warburton: Hemagglutinins of the Haemophilus group, Nature (London), 16o, 63 (1947)

(29) Kieninger, G.: Untersuchungen zur Methodik der indirekten Haemagglutination, Diss.Hyg.Inst.Tübingen (1964)

(3o) Kraus, R. und St. Ludwig: Über Bacteriohämagglutinine und Antihämagglutinine, Wien.Klin.Wschr., 15, 12o (19o2)

(31) Lovell, R.: The Presence and Significance of Agglutinins for some Members of the Salmonella group occuring in the Sera of Normal Animals, J.comp.Path., 47, 1o7 (1934)

(32) Lüdke, H.: Zur Spezifität der Antikörper, Centralbl. f.Bacteriol., 38, 81 (19o5)

(33) Michie, D. und J.G. Howard: Transplantation Tolerance and Immunological Immaturity, Ann.N.Y.Acad. Sci., 99, 67o (1962)

(34) Milgrom, F. und Z. Swierczyńska: Studies on the Specifity of Natural Antibacterial Antibodies, Schweiz.Z.f.Path.Bact., 19, 189 (1956)

(35) Neter, E., L.F. Bertram, D. Zak, M.R. Murdock und C. Arbesman: Studies on Hemagglutination and Hemolysis by E.coli antisera, J.Exp.Med., 96, 1 (1952)

(36) Neter, E., N.J. Zalewski und W.W. Ferguson: E.coli hemagglutinin response of Adult Volunteers to Ingested E.coli O 55 B5, Proc.Soc.Exp. Biol.&Med., 82, 215 (1953)

(37) Neter, E., O. Westphal, O.Lüderitz, R.M. Gino und E.A. Gorzynski: Demonstration of Antibodies against Enteropathogenic Escherichia Coli in Sera of Children of various ages, Pediatrics, 16, 8o1 (1955)

(38) Neter, E.: Bacterial Hemagglutination and Hemolysis, Bacteriol.Rev., 2o, 166 (1956)

(39) Ocklitz, H.W. und E.F. Schmidt: Die Bedeutung pathogener Colistämme (Dyspepsiecoli) für die akuten Durchfallserkrankungen des Säuglings, Beihefte zum Arch.f.Kinderh., 28,1954

(4o) Pfau, P.: Die Serumproteine von Feten, Neugeborenen und übertragenen Säuglingen, Arch.Gyn., 185, 2o8 (1954/55)

(41) Rabe, E.F. und M. Plonko: The Antibody Response to Gramnegative Organisms: an Explanation of the Difference between bacterial and hemagglutination titers, Pediatrics, 14, 351 (1954)

(42) Silverstein, A.M.: Congenital Syphilis and the Timing of Immunogenesis in the Human Fetus, Nature, 194, 196 (1962)

(43) Silverstein, A.M., J.W. Uhr, K.L. Kraner und R.J. Lukes: Fetal Response to Antigenic Stimulus, II - Antibody Production by the Fetal Lamb, J.Exp.Med., 117, 799 (1963)

(44) Wilken, H.: Die Immunität der Schwangeren, des Feten und Neugeborenen, Münch.Med.Wschr., 107/2, 2343 (1965)

(45) Yeivin, R., M. Salzberger und A.L. Olitzki: Development of Antibodies to Enteric Pathogens: Placental Transfer of Antibodies and Development of Immunity in Childhood, Pediatrics, 18, 19 (1956)

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr.med. R.-E. B a d e r , danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas.

Insbesondere möchte ich mich bei ihm an dieser Stelle für seine verständnisvolle und allzeit bereitwillige Unterstützung bei allen Fragen und Problemen herzlichst bedanken.

Ebenfalls danke ich der medizinisch-technischen Assistentin Fräulein Ch. Ringwald und all den anderen Angehörigen des Hygiene-Instituts, mit deren Hilfe die reibungslose Durchführung der Versuche ermöglicht wurde.

Für die freundliche Überlassung der Seren gilt mein besonderer Dank der Universitäts-Kinderklinik Tübingen (Direktor: Professor Dr.med. K. B e t k e) und der Städt. Kinderklinik Stuttgart (Direktor: Professor Dr.med. E. G r u n d l e r).

Lebenslauf

Am 21. Juni 1943 wurde ich, Brigitte Walter, als erstes Kind des Zahnarztes Dr.med.dent. Karl Walter und seiner Ehefrau Lotte, geb. Bubeck, in Stuttgart geboren.

Von 1949 bis 1953 besuchte ich die Grundschule in Schmiden und von 1953 bis 1962 das Friedrich-Schiller - Gymnasium in Fellbach, wo ich im März 1962 die mathematisch-naturwissenschaftliche Reifeprüfung ablegte.

Von 1962 bis 1967 studierte ich an der Eberhard-Karls - Universität in Tübingen während elf Semestern Medizin. Dort bestand ich im März 1963 die naturwissenschaftliche, im Oktober 1964 die ärztliche Vorprüfung und schloß im Februar 1968 mit dem medizinischen Staatsexamen ab.